中華農業研究 (Jour. agric. Res, China) 31(3)：220～224 (1982)

緋牡丹仙人掌組織培養之研究[1]

林 瑞 松[2]

摘要：含有 4mg/l 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) 及 1mg/l 6-furfurylamin-opurine (Kinetin) 之 Gamborg[3] 修正配方培養基培養緋牡丹仙人掌 (*Gymnocalycium minansvichii* Var) 的仔球不定芽組織可達到大量繁殖的目的。9,000 lux 之照光有利於 Callus 之形成，黑暗下形成之 Callus 呈白化現象。將 Callus 培養於含有 10 mg/l Naphthalenecetic acid (NAA) 及5 mg/l Kinetin 之 Gamborg 修正配方培養基可誘導器官之分化。

緋牡丹仙人掌，屬雙子葉多年生植物，紅艷可愛，能盛開嬌艷奪目的花朵，最適宜室內盆栽，不論室內戶外或案頭茶几，均可擺設，性耐旱，不需經常澆水管理，對經常處在忙碌生活的人士非常合適，由於喜愛者漸多，故緋牡丹仙人掌成爲國際花卉市場之寵兒，然以自然分球法繁殖無法迎合外銷數量，因此大量快速繁殖方法有加以研究之必要，本研究之目的在研究利用組織培養法大量繁殖緋牡丹仙人掌之可行性。

材料及方法

購自彰化縣田尾鄉花卉專業區之緋牡丹仙人掌 (*Gymnocalycium minansvichii* Var.)，先以1 000 倍萬力 (Benlate) 消毒殺菌浸漬半小時後，栽種於經 70 °C，1 小時蒸氣殺菌之培養土中，成活後進行下列試驗。

一、仔球誘發試驗：

以GA 500 ppm, 1,000 ppm；NAA 5,000 ppm, 10,000 ppm 及水爲對照處理母球，每週噴施一次，經三週後，觀察施用植物荷爾蒙產生仔球情形。

二、癒傷組織之誘導試驗：

將採收前之仙人掌仔球以萬力 1000 倍液，每週噴霧消毒二次二週共計四次，採收後仔球拔去毛刺，浸入 20% Clorox (1% NaClO) 30 分鐘，再以無菌水洗滌，晾乾後，沾着酒精，點火燃燒表面附着球體之酒精，燒燒時間很短，以免傷及生長點，小心剃去殘留絨毛後再以 2.5%雙氧水浸 30秒，以無菌水沖洗。消毒完畢之仙人掌仔球在解剖顯微鏡下擷取不定芽組織，放置於經高壓殺菌後之固態培養基上，以誘導產生癒傷組織。培養基之組成爲 1968 年 Gamborg[3] B_5配方之無機鹽外加 100 mg/l myo-insitol, 0.5 mg/l Nicotinic acid, 0.5 mg/l Pyridoxine • HCl, 0.1 mg/l thiamine • HCl, 30 g/l 蔗糖，1 mg/l Kinetin 及不同濃度之 2, 4-D (表 2) 。將接種後之材料置於 25 °C 恆溫下，以 9000 lux 照光或黑暗培養，觀察 Callus 之形成。

---

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告第1058號
2. 本所園藝系助理研究員。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

三、Callus 器官分化之誘導：

在 9,000 lux 照光下，使用 B_5 修正配方之半量無機鹽及全量有機鹽，配合表 3 所列不同濃度之 Kinetin 及 NAA，培養由不定芽組織形成之 Callus，調查器官之分化。

結　果

一、仔球誘發試驗

供試之緋牡丹仙人掌母球體直徑 4 ～ 5 公分，其莖部之葉退化成刺狀，刺下簇生白色絨毛，不定芽組織即隱藏其內，噴施 GA 及 NAA 植物荷爾蒙後，約第四週後開始產生仔球，第六週仔球產生數達到最高峰，二種荷爾蒙以 1,000 ppm GA 及5,000 ppm NAA 處理效果較好，10,000 ppm NAA 使用效果不佳，且有藥害。（表 1）

表1. 仙人掌母球經荷爾蒙處理誘導產生仔球平均數

Table 1. The average number of plantlets induced per plant by hormonal treatment*

Treatment		Weeks after treatment				
		2	4	6	8	total
	—ppm—					
GA	1000	0	5	6	3	14
	500	0	2	4	3	9
NAA	1000	0	3	4	3	8
	5000	0	4	6	2	12
CK		0	3	2	1	6

* 20 mother plants for each treatment.

二、癒傷組織之誘導試驗

仙人掌不定芽組織培養三個月後，觀察其癒傷組織產生情形（表 2），顯示在 4 mg/l 2, 4-D, 1mg/l Kinetin 之照光處理有 62% 成功率效果最佳，且誘導後之 Callus 生長良好。4 mg/l 2, 4-D , 1mg/l Kinetin 配方之黑暗處理僅有 28% 形成白化的癒傷組織（圖 1）效果最差，而照光處理之癒傷組織呈綠色（圖 2），8mg/l 2, 4-D 處理所形成之癒傷組織有褐化現象。

表2. 不同 2, 4-D 濃度對緋牡丹仙人掌不定芽組織培養誘導 Callus 形成之效果。

Table 2. The effect of 2, 4-D concentration on callus formation from auxilary bud culture of *Gymnocalycium minansvichii* Var*

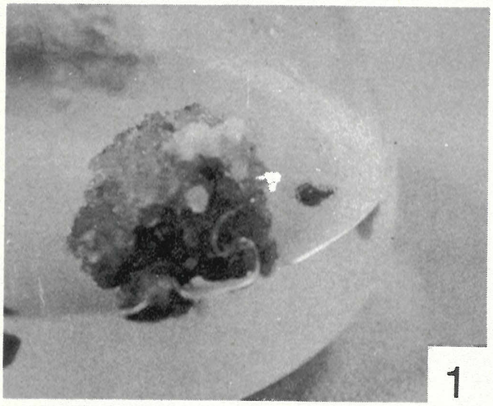
treatment	2, 4-D concentration	No. of cultured	No. of bud concentration	Colli-forming bud No.	—%—
	—mg/l—				
Light (9000 lux)	2	50	4	5	11
	4	50	3	29	62
	6	50	4	21	46
	8	50	4	19	41
	10	50	3	14	30

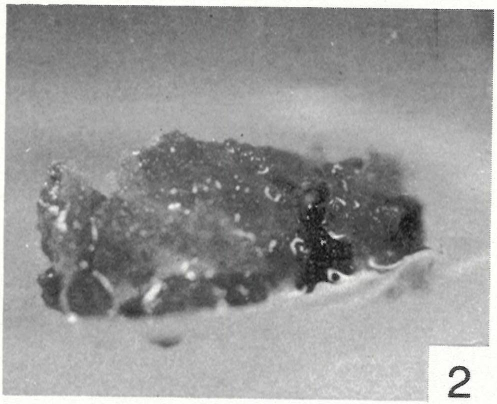
	2	50	5	3	7
	4	50	4	13	28
Dark	6	50	3	9	19
	8	50	3	7	15
	10	50	4	5	11

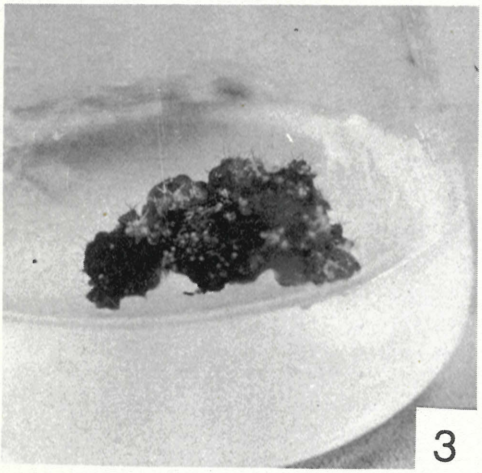
*Basal medium : Gamborg B_5 modified medium supplemented with 1mg/l kinetin.

三、癒傷組織器官分化之誘導

表3結果顯示，含有 5 mg/l Kinetin 及 10 mg/l NAA 之 B_5 修正配方培養基對誘導器官分化效果最佳（圖3）成功率可達80%。由癒傷組織誘導發育成球體直徑2公分左右，需時3個月（圖4）。







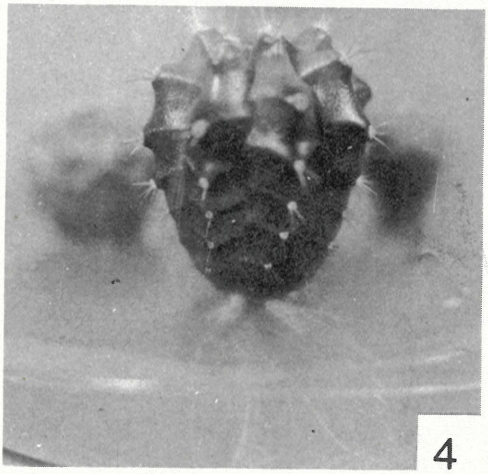


圖1. 在黑暗處理下，緋牡丹仙人掌不定芽組織所誘導出之癒傷組織呈白化現象。
Fig. 1. Albino calli indued from red cactus(*Gymnocalycium minansvichii* Var.)auxilary bud cultured in dark.
圖2. 在 9000 lux 光强下，緋牡丹仙人掌不定芽組織所誘導之綠色癒傷組織。
Fig. 2. Normal green calli induced from red cactus auxilary bud tissue cultured in 9000 lux light.
圖3. 癒傷組織經1～2個月繼代培養後誘導器官形成之情形
Fig. 3. Organogenesis in red cactus calli subcultured for 1-2 months.
圖4. 由組織培養發育而成健旺之仙人掌仔球
Fig . Well developed red cactus plantlet from *in vitro* culture.

表3. 植物荷爾蒙對仙人掌癒傷組織器官形成效果

Table 3. The effect of plant hormones on organformation of catus callus

Plant regulator Concentration		No. of callus culture	organformation					
NAA	Kintetin		Shoot-forming callus		root-forming callus		Spine-forming callus	
—mg/l—	—mg/l—		No.	—%—	No.	—%—	No.	—%—
2	2	200	150	75	60	30	130	65
5	5	200	160	80	70	35	150	75
5	10	200	166	83	76	38	160	80
10	5	200	174	87	170	85	174	87

討　論

1957 年 Witter *et al* [14] 及 1955 年 Rappaport *et al* [11] 以激勃素（GA）處理更馬鈴薯塊莖萌芽，認為塊莖內植物荷爾蒙的 GA 含量與其他荷爾蒙的制衡作用可促進塊莖芽的萌發。本試驗發現施用 1,000 ppm GA 或 5,000 ppm NAA 對仙人掌仔球產生的效果良好。證明此二種植物荷爾蒙對緋牡丹仙人掌球體（莖發育而成）之芽球萌發具有誘導的作用。

生長點分生組織培養成功的例子很多，如蘭科植物中東亞蘭，嘉德利亞蘭、石斛蘭等。[1,9] 仙人掌類植物絨毛與刺最易藏污納垢，雜菌叢生，在消毒手續上頗費周章。因此在仙人掌組織培養研究報告中，幾乎都提及污染率太高的問題。由於仔球之分生能力強且雜菌污染較少，故利用仔球為組織培養材料以減少污染率。仙人掌之外表及內部表皮層之病原菌無法以表面消毒達到根除無菌境界，作者曾嚐試多種藥劑如次氯酸鈉、雙氧水、Clorox之消毒試藥其中以雙氧水藥效最佳。1957 年 King [6] 首先以 White's medium 修正配方，添加 2, 4-D 及椰子汁從事仙人掌組織培養研究，誘導得癒傷組織。1962 年 Steinhart [13] 以 *Trichocerus spachianus* 之莖部分生組織從事組織培養研究，誘導得癒傷組織。

本試驗材料取自經荷爾蒙處理刺激誘導產生之仔球，由於栽植在蒸氣消毒過之培養土，預措消毒完全，在採入實驗室後，經一系列消毒手續，並以火焰燒去絨毛，故污染率降低至 10% 左右。

取自仔球的不定芽組織置於培養基上，經 1 個半月即有癒傷組織產生。照光處理與暗處理間之差異很大；顯示光源在誘導仙人掌之癒傷組織是重要的。在 8mg/l 2, 4-D 培養基上之癒傷組織有褐化現象且形成率較 4 mg/l 2, 4-D 相差甚多，依 1974 年 Minocha [8] 報告以 *Neomammillaria profilera* Miller（仙人掌之一種）所誘導得之癒傷組織在增殖時，高濃度之 2, 4-D 對癒傷組織的生長具有毒害作用，因此本試驗中 2, 4-D 濃度，8 mg/l 比 4 mg/l 之效果差，且有褐化現象與 Minocha [8] 之結果相同。

早期的研究報告已證明器官形成的調節機制在於 auxin 與 Cytokinin 之制衡 [2,10,12]，仙人掌行試管內培養之研究已有 7 種不同的植物荷爾蒙及不同濃度（由 0 到 100mg/l）[7,13] 被嚐試過，其器官形成之有效植物荷爾蒙為 auxin 類的 NAA 及 IBA　Cytokinin 類的 Kinetin 及 6-benzylaminopurine（BA），本試驗結果緋牡丹仙人掌器官形成之植物荷爾蒙 NAA 在 2 mg/l 濃度下，即可誘導 75% 球體莖的產生。1979 年 Johnson [5] 以 *Mammillaria elongata* 仙人掌試驗結果在 auxin : cytokinin 之比例相等時可誘導球莖產體的生，本試驗結果與其相同，但是在培養基無法誘導健旺的根羣。5 mg/l Kinetin 及 10mg/l NAA 之培養基上則能誘導健旺的根羣。James [4] 1975 年報導 NAA 量高於 GA 可以促進 *Opunta polcantha* 根部的形成，顯然根之器官形成，auxin 含

量需高於 Cytokinin 含量。

由癒傷組織誘導至莖部長大爲直徑 2 公分大小費時 3 個月，原本母球爲緋紅色，可是誘導長出之球體却呈現綠色。再經 1 個月，球體莖頂部漸顯出紅褐色，細胞色素由葉綠素轉換至胡蘿蔔素，是否可進一步改良培養基成分而使色澤更臻理想，値得進一步探討。

引 用 文 獻

1. Arditt, J. 1979. Orchid Biology. Comstock Publishing Associates. 309 pp.
2. Chen, R. H. and A. W. Galston. 1965. Organ formation in pelargonius tissue culture. Amer. J. Bot. 52 : 614.
3. Gamborg, O. L., R. A. Miller and K. Ojiima. 1963. Nutrient requirement of suspennsion cultures of soybean root cells Res. 50 : 151-158.
4. James, D. and Halperin. 1975. Hormonal control of organogensis in *Opuntia polyacantha* (Cactaceae). Amer. J. Bot. 62 (8) : 869-877.
5. Johson, J. L. and E. R. Emino. 1979. In Vitro propagation of *Mammillaria elongata*. Hort Sci. 14 (5) : 605-606.
6. King, K. M. 1957. Studies on the tissue culture of cacti. Cactus and Succulent J. 29 : 102-104.
7. Mauseth, J. D. 1977. Cactus tissue culture : a potential method of propagation. Catus and Succulent J. 49 : 80-81.
8. Minocha, S. C. and P. N. Mehra. 1974. Nutrition and morphogenetical investigagation on callus cultures of *Noemammilaria proliferera* Miller. (Cactaceae). Amer. J. Bot. 61 : 168-173.
9. Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture, Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 135-166.
10. Pillai, S. K. and A. C. Hilderbrandt. 1969. Induced differentiation of geranium plants from undifferentiated callus *in vitro*. Amer. J. Bot. 56 : 52-53.
11. Rappaport, L. S., Goldschimidt, M. Clegg and O. E. Smith. 1965. Regulation of bud rest in tubers potato. Plant Cell Physiol. 6 : 587-600.
12. Skoog, F. and C. O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation inplant tissue cultured *in vitro*. Symp. Soc. Expt. Biol. 11 : 118-131.
13. Steinhart, C. E. 1962. Tissue culture of a cactus. Science 137 : 545-546.
14. Witter, S. H. and M. J. Bukovac. 1958. The effect of gibberellin on economic crops. Econ. Bot. 12 : 213-225.

Studies on Tissue Culture of Cactus (*Gymnocalycium minansvichii* Var.)

Ruey-Song Lin

Summary

Mass In Vitro propagation of red cactus(*Gymnocalycium minansvichii* Var.)can be achieved by culturing auxilary bud of plantlets on modified Gamborg medium containing 4 mg/l 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid(2, 4-D)and 1 mg/l furfurylaminopurine (Kinetin). Light treatment 9,000 lux in intensity promoted more callus formed. Calli formed in dark showed albinism. Modified Gamborg medium used for organogenesis contains 10mg/l naphthaleneacetic acid (NAA) and 5mg/l kinetin.

---

1. Contribution No. 1058 from Taiwan Agricultural Rescarch Institute.
2. Assistant Horticulturist, Department of Horticulture, TARI, Wu-feng, Taichung Hsien, Taiwan 431, R. O. C.